

УДК 631.466:582.688.3:502.52:631.562

Н.И. ШУМИК, кандидат биологических наук
Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины, г. Киев

СИМБИОТИЧЕСКАЯ ИНТРОДУКЦИЯ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА ERICACEAE JUSS. В ЭВОЛЮЦИОННО-АНАЛОГОВОМ КОНСТРУИРОВАНИИ КУЛЬТУРФИТОЦЕНОЗОВ

Обоснована целесообразность использования методов симбиотической интродукции и физического моделирования искусственных фитоценозов для представителей семейства Ericaceae Juss.

Ключевые слова: симбиоз, микориза, виды семейства Ericaceae, симбиотическая интродукция.

Введение

Ни один растительный организм в биогеоценозе (в том числе и в урбанизированной экосистеме) не существует изолированно от своего окружения. Он взаимодействует как с другими живыми организмами, так и с факторами окружающей среды. Одним из главных типов взаимодействий между организмами является мутуализм - биологическое взаимодействие, способствующее росту и выживанию обоих видов-партнеров, то есть одна из форм симбиоза в широком смысле [4]. Симбиоз является результатом кооперативной адаптации симбиотических партнеров с целью создания стабильной надорганизменной системы [2]. Наиболее интересным и экологически важным примером симбиоза является микориза. Микоризой называют сложные структуры на корнях сосудистых растений, которые они образуют с грибами. Первые микоризные образования (везикулярно-арбускулярная микориза) были найдены в ископаемых остатках растений ордовикского периода, возраст которых составляет 460 миллионов лет [8,9]. Немногочисленные ископаемые остатки грибов относятся к палеозойской эре, хотя молекулярный анализ показывает, что симбиотические отношения между грибами и беспозвоночными животными или водорослями были известны еще в протерозое. Сравнительный анализ полностью расшифрованных геномов показывает, что грибы генетически ближе к животным и расхождение их филогенетических линий началось 1513 млн. лет назад [6]. Это свидетельствует о том, что первые грибы появились на земле задолго до растений. Выход растений на сушу произошел исключительно благодаря их симбиозу с грибами. Первые растения, оказавшиеся на суше, были не в состоянии усваивать питательные вещества и даже воду из почвы, а их корни (точнее ризоиды) выполняли лишь функцию закрепления в грунте. Первичная функция корней - симбиоз с микоризными грибами, а способность всасывать самостоятельно питательные вещества из почвы развилась значительно позже. Микориза, по-видимому, сыграла решающую роль при заселении растениями суши [4].

В урбоэкосистемах стратегия интродукции основывается на обеспечении усиления способности интродуцированных видов к быстрому адаптивному реагированию и саморегуляции в ответ на действие как естественных, так и антропогенных факторов [1]. Целью нашего исследования было обоснование методов введения в культуру высокомикотрофных видов, которыми являются представители семейства Ericaceae Juss.

Объекты и методы исследования

Одним из направлений интродукции является симбиотическая интродукция, которая применяется для микотрофных видов. Концепция интродукции видов семейства

Ericaceae предполагает приоритет оптимального состава микосимбионтов интродуцированных видов растений, что дает возможность полного проявления адаптаций. Использованный в исследованиях эволюционно-аналоговый подход к конструированию культурфитоценозов [2, 3] учитывает эффективный состав симбионтов, учитывает иерархическую устойчивость биологических сообществ в соответствии с устойчивостью каждого из блоков иерархии (высшее растение – микоценоз). При изучении микоризы растений степень ее развития и распределение в корневой системе выражается показателями частоты встречаемости и интенсивности заражения [5]. Частота встречаемости микоризной инфекции (заражения) (F) вычисляется в процентах по формуле: $F = n \times 100/N$, где N – общее число просмотренных полей зрения; n – число полей зрения, где обнаружен микоризообразующий гриб. Интенсивность заражения корня эрикоидной микоризой определяли на анатомических срезах по пятибалльной шкале: балл 5 – на поверхности корня плотный грибной чехол, периферические слои клеток корня сплошь заполнены грибом, образующим микодермис; балл 4 – на поверхности корня грибной чехол, но микодермис не сплошной; балл 3 – на поверхности корня рыхлое сплетение гиф, а в эпидермальных клетках 1/3 клеток без гриба; балл 2 – на поверхности корня встречаются единичные гифы, примерно половина эпидермальных клеток без гриба, во внутренних слоях коры гриба нет; балл 1 – гриб лишь в отдельных эпидермальных клетках, на поверхности корня единичные гифы [5]. Применены имитирующие методы построения фитоценотического объекта, использованы упрощенные физические модели природных экосистем, в качестве которых представлены искусственные фитоценозы (коллекционно-экспозиционные участки "Сад рододендронов" и "Вересковый сад".

Результаты и обсуждение

Растениям семейства Ericaceae свойственна микориза эрикоидного типа. Они относятся к облигатным микотрофам, существование которых без микоризы возможно только ограниченное время. Нами была исследована микориза на корнях *Rhododendron myrtifolium* Schott and Kotschy, *R. luteum* Sweet., *R. tomentosum* Harmaja, *Calluna vulgaris* (L.) Hull. Были исследованы корни *R. luteum* Sweet. в разных ценологических условиях: с преобладанием в первом ярусе древостоя *Quercus robur* L. (10Д + С), возраст древостоя 130 лет, в подлеске *Vaccinium myrtillus* L., *R. luteum*; с преобладанием *Pinus sylvestris* L., возраст древостоя 95 лет, в подлеске *Vaccinium myrtillus*, *Calluna vulgaris*, *R. luteum*.

Корни изучаемых видов в условиях питомника имеют гифы белого цвета, которые размещены одиночно. Корни рододендронов, растущих в дубовом древостое, имеют немногочисленные прозрачные гифы, стелющиеся вдоль корня. На образцах корней рододендрона в сосновом древостое гифы расположены скоплениями вдоль корней. Однако надо отметить, что зараженные микоризой участки корней и свободные от заражения во всех исследуемых экотопах имеют разный цвет. Обычные корни *Rh. luteum* – рыжего или светло-коричневого цвета, а микоризные участки имеют окраску от темно-коричневого до черного цвета. Частота встречаемости микоризы у *R. luteum* в разных экотопах характеризуется различной величиной. В сосновом древостое она составляет 54%, дубовом – 39%, а в условиях культуры рододендрон микориза выявлена лишь на 6% корней [7]. На поперечных срезах корней рододендронов видно, что в условиях питомника при инокуляции саженцев происходит интенсивное заражение микоризным грибом на толщину в 4-5 последовательных рядов эпидермальных клеток. Иногда наблюдалось проникновение в глубокие слои мезодермы, но внешний микоризный чехол обедненный или отсутствует. Интенсивность заражения составляет 5,0 баллов. На анатомических срезах образцов корней рододендрона, который растет в дубовом древостое, наблюдается плотный слой клеток, от 2 до 5 последовательных рядов, зараженных микоризной инфекцией. Интенсивность заражения здесь составляет

3,5 балла. Частота встречаемости микоризной инфекции в местах естественного произрастания вида больше на 41%, чем в культуре [6]. Однако глубина проникновения микоризы в мезодерму первичного корня высокая в культуре (4-5 слоев клеток) и низкая в древостое с преобладанием сосны обыкновенной. Это может объясняться неоднородностью фона образующих микоризу грибов при выращивании в культуре, а также компенсаторным механизмом, который нивелирует низкий уровень зараженности микоризой в питомнике, или низким уровнем иммунного ответа *R. luteum* на проникновение микоризных симбионтов.

При сравнении параметров микоризации корней исследуемых видов в разных экотопах наблюдается различная степень зараженности с преобладанием специфических структурных особенностей. В древостое с преобладанием *Pinus sylvestris* на корнях рододендронов лучше развит микодермис (мицелиальный чехол); зараженность в 15 раз выше, чем в культуре и в древостое с преобладанием *Quercus robur*, внутриклеточная зараженность слабее. В дубовом древостое наоборот, эпидермальные клетки и более глубокие слои клеток коры корня плотно заражены микоризным грибом, а внешний чехлик (микодермис) развит слабо. Это различие может быть следствием различной трофности: *Pinus sylvestris* растет на почвах с обедненным содержанием питательных веществ, а *Quercus robur* – наоборот. Развитие на корнях рододендронов, растущих на бедных минеральными веществами почвах, внешнего микоризного чехлика объясняется необходимостью захвата большей площади поглощения или отличием грибного симбионта, который в разных ценологических условиях представлен различными видами [8]. Таким образом, частота встречаемости микоризных грибов в условиях культуры на 41% ниже и в 15 раз меньше площадь микодермиса, нежели в естественных условиях. Это свидетельствует о низкой степени микоризации видов в условиях культуры, что требует дополнительных мер по искусственной инокуляции с целью повышения адаптивной способности интродуцента.

Исследована степень микоризации и частота встречаемости микоризы на корнях *R. luteum* в питомнике Национального ботанического сада им. Н.Н. Гришко. Сеянцы в возрасте 5 лет были инокулированы биопрепаратом "Mikoflor" и грунтом с места естественного произрастания *R. luteum*. Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что частота встречаемости микоризной инфекции на корнях саженцев во всех вариантах по сравнению с контрольным увеличивается. Так, в контрольном варианте частота встречаемости микоризной инфекции составляла 87%, при добавлении "Mikoflor" – 98%, при добавлении грунта из дубового древостоя – 93%, из соснового древостоя – 95%. Показатель интенсивности микоризации, наоборот, не изменился и в некоторых случаях сократился, соответственно: 2,85; 2,24; 2,89; и 2,44 балла. Интересен тот факт, что при инокуляции биопрепаратами корни с имеющейся микоризой окрашивались в желто-коричневый цвет, в отличие от контрольного варианта, где корни с микоризой имели зеленый цвет [7]. Это может быть связано с тем, что биопрепараты имеют разный видовой состав грибов - он влияет на частоту инокуляции клеток корней, но не снижает качество инокуляции.

Проведены экспериментальные исследования влияния биопрепарата «Mikoflor» польского производства, где основной составляющей являются микосимбионты рода *Oidiodendron* и *Hymenoscyphus*, на всхожесть и развитие проростков *R. smirnowii* Trautv. Схема опыта была следующей: 1 – внесение биопрепарата в различных дозах 2, 3, 5, 7 и 9 мл непосредственно перед посевом семян; 2 – внесение препарата в количестве 2 мл в почву за месяц до посева; 3 – контроль (без инокуляции биопрепаратом). Результаты влияния биопрепарата на начальные стадии развития сеянцев отображены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние различных доз микоризного препарата на начальные этапы развития сеянцев *Я. smirnowii*

Вариант Параметры	Конт роль	С предвари- тельной инокуляцией (за месяц)	2 мл	3 мл	5 мл	7 мл	9 мл
Всхожесть, %	3	25	28	34	26	15	10
Начало прорастания, день	25	10	23	20	10	23	20
Образование семядолей, день	28	12	24	24	12	36	24

Данные, отображенные в таблице 1, позволяют сделать вывод о том, что добавление микоризного препарата значительно повышает всхожесть и ускоряет развитие проростков на 10 – 30%. Особое влияние наблюдается при добавлении 5 мл препарата и при предварительном заражении почвы.

Исследовано влияние инокуляции биопрепаратом «Mikoflor» и грунтом с места естественного произрастания *R. luteum* (ценоз с преобладанием дуба обыкновенного) на саженцы *R. smirnowii* и *R. schlippenbachii* Maxim. При наблюдении за ростом и развитием исследуемых и контрольных саженцев измерялись линейные показатели роста (высота) и проводилась оценка интенсивности микоризного заражения клеток корней растений методом электронной микроскопии (табл. 2).

Таблица 2

Прирост в высоту саженцев *R. smirnowii*, *R. schlippenbachii*, см

Вариант Вид	Инокуляция биопрепаратом		Внесение грунта с микоризой	
	контроль	опыт	контроль	опыт
<i>R. smirnowii</i>	6,5	8,8	4,6	3,6
<i>R. schlippenbachii</i>	5,3	5,8	1,0	3,1

Анализ результатов показывает, что инокуляция субстрата препаратом «Mikoflor» слабо влияет на прирост побегов *R. schlippenbachii*. Этот факт объясняется тем, что для микосимбионтов, которые входят в состав биопрепарата, не характерно образование симбиотических ассоциаций с *R. schlippenbachii*. Для *R. smirnowii* влияние биопрепарата на прирост было существенным, о чем свидетельствуют результаты анализа. В варианте опыта, где исследуемые виды заражались грунтом из под древостоя с преобладанием *Quercus robur*, также наблюдались неоднозначные результаты. У *R. schlippenbachii* под действием заражения прирост увеличился, а у *R. smirnowii* - наоборот, уменьшился. Данный результат свидетельствует о том, что в естественных местопроизрастаниях *R. smirnowii* входит в подлесок буковых и еловых древостоев, а *R. schlippenbachii* – дубовых и березовых. Это объясняет отсутствие общих микосимбионтов для одного вида и их наличие для другого, а также возможность образования ассоциативной связи.

Анализ анатомических срезов исследуемых видов, которые были сделаны в начале вегетационного периода, свидетельствует, что степень микоризного заражения клеток корня составила у *Я. smirnowii* – 2,0 балла, у *R. schlippenbachii* – 3,6. Причиной достаточно высокого микоризного заражения корней в начале сезона стала полуразложившаяся хвойная подстилка из соснового древостоя, которой регулярно

мульчируются саженцы.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что сеянцы рододендронов подвержены микоризному заражению еще на ранних стадиях развития. Причиной этого может быть наличие микосимбионтов в субстрате, который использовался для проращивания семян. Другой причиной может быть наличие спор микоризных грибов в семенах, образующих в дальнейшем микоризу.

По нашим наблюдениям рыхление почвы в приствольных кругах вересковых растений неблагоприятно отражается на росте растений и прежде всего из-за ухудшения условий для развития микоризы. Кроме того, на развитие микоризы оказывает негативное влияние применение удобрений, фунгицидов, гербицидов, сидеральных паров.

Выводы

Эффективность симбиоза может быть достигнута при создании комплементарных симбиотических партнеров, их комплексов, присущих только этому географическому району. В условиях района культивирования, как правило, нет аборигенной микоризообразующей составляющей микофлоры, присущей интродуцированному виду. Для успешной интродукции микотрофных видов необходим подбор симбионтов с высокой степенью интенсивности симбиотического взаимодействия и чувствительности высшего растения к инокуляции. Симбиоз рассматривается как стратегия совместного выживания неродственных организмов – «интегральная» стратегия адаптации к условиям существования. Эффективность симбиоза является перспективным фактором быстрой адаптации живых систем к меняющимся условиям существования (возрастающие урбанизация и аридность климата).

Успешность интродукции высокомикотрофных видов, которыми являются виды семейства *Ericaceae*, зависит от наличия микоризы и благоприятных условий для их развития. Для интродукции микотрофных видов рекомендуется метод симбиотической интродукции. Он предполагает максимальное использование и сохранение типов взаимодействия между живыми организмами в физической модели искусственного фитоценоза.

Список литературы

1. Булах П.Е. Интродукция растений как эколого-географическая проблема / П.Е. Булах // Интродукція рослин. – 2010. – №3. – С.61-68.
2. Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений (эколого-генетические основы) / А.А. Жученко. – Кишинев, 1988. – 160 с.
3. Пропоров Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе / Н.А. Пропоров // Журн. общей биол. – 2001. – С. 472-495.
4. Рейвн П. Современная ботаника / П. Рейвн, Р. Эверт, С. Айкхорн; пер. с англ. – М.: Мир, 1990. – 344 с.
5. Селиванов И.А. Методы количественной характеристики микосимбиотрофизма растений / И.А. Селиванов // Микориза и другие формы консортивных связей в природе. – Пермь, 1987. – С. 26-42.
6. Федонкин М.А. Две летописи жизни: опыт сопоставления (палеобиология и геномика о ранних этапах эволюции биосферы) // Проблемы геологии минералогии. – Сыктывкар: Геопринт, 2006. – С. 331 – 350.
7. Шумик М.І. Мікориза рододендрона жовтого (*Rhododendron luteum* Sweet.) в природних умовах та в умовах культури / М.І. Шумик, Н.Ю. Белова, О.Г. Сіренко // Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. – 2011. – Вип. XV. – С. 71-78.

8. Temple A. Ericaceae: Polymorphisme architectural d'une famille des regions tempereres et tropicales d'altitude / A. Temple // C. r. Acad. sci. – 1977. – Vol. 284,N 3. – P. 163-166.

9. Irving E., Hebda R. Concerning the Origin and Distribution of Rhododendrons. <http://www.rhododendron.org/v47n3p139.htm>

Статья поступила в редакцию 06.03.2013 г.

M.I. Shumik, *PhD in Biology*

M.M. Grysh^ National Botanical Gardens, National Academy of Sciences of Ukraine

SYMBIOTIC INTRODUCTION OF THE SPECIES FROM ERICACEAE JUSS. FAMILY IN THE EVOLUTIONARY DESIGN OF ANALOG KULTURPHYTOCENOSIS

Expedience of symbiotic introduction methods and physical modeling of artificial phytocenosis use for the members of Ericaceae Juss. family has been grounded.

M.I. Шумик, кандидат біологічних наук

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, м. Київ

СИМБІОТИЧНА ІНТРОДУКЦІЯ ВИДІВ РОДИНИ ERICACEAE JUSS. В ЕВОЛЮЦІЙНО-АНАЛОГОВОМУ КОНСТРУЮВАННІ КУЛЬТУРФІТОЦЕНОЗІВ

Обґрунтовано доцільність використання методів симбіотичної інтродукції та фізичного моделювання штучних фітоценозів для представників родини Ericaceae Juss.

Н.И. ШУМИК, кандидат биологических наук

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины, г. Киев

СИМБИОТИЧЕСКАЯ ИНТРОДУКЦИЯ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА ERICACEAE JUSS. В ЭВОЛЮЦИОННО-АНАЛОГОВОМ КОНСТРУИРОВАНИИ КУЛЬТУРФИТОЦЕНОЗОВ

Обоснована целесообразность использования методов симбиотической интродукции и физического моделирования искусственных фитоценозов для представителей семейства Ericaceae Juss.